



TITLE:

Identification of MMP1 as a novel risk factor for intracranial aneurysms in ADPKD using iPSC models( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Ameku, Tomonaga

---

CITATION:

Ameku, Tomonaga. Identification of MMP1 as a novel risk factor for intracranial aneurysms in ADPKD using iPSC models. 京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-01-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20079>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	天 久 朝 廷
論文題目	Identification of MMP1 as a novel risk factor for intracranial aneurysms in ADPKD using iPSC models (iPS 細胞疾患モデルを用いたADPKDにおける脳動脈瘤合併に関与する新規リスク因子MMP1 の同定)		
(論文内容の要旨)			
<p>【目的】 常染色体優性多発性嚢胞腎 (autosomal dominant polycystic kidney disease : ADPKD) は <i>PKD1</i> もしくは <i>PKD2</i> 遺伝子の変異によって、腎臓や肝臓等に多発性の嚢胞が形成される遺伝性疾患であるが、脳動脈瘤の破裂によるくも膜下出血などの脳血管障害の合併が多いことが知られている。脳動脈瘤合併のリスク因子として家族歴や年齢が報告されているが、有用なバイオマーカーなどは現在までのところ見つかっておらず、脳動脈瘤発生の機序も不明である。そこで、本研究ではADPKD患者由来の iPS (induced pluripotent stem) 細胞を用いて血管分化系疾患モデルを作製し、脳動脈瘤合併に関わる新規の病態関連分子の同定を行った。</p> <p>【方法・結果】 まず、脳動脈瘤合併ADPKD患者4例と非合併ADPKD患者3例の皮膚線維芽細胞にレトロウイルスベクターを用いて OCT4・SOX2・KLF4・(C-MYC) を導入することで、iPS細胞を作製した。ADPKD患者由来 iPS細胞は、既存の誘導法 (Homma K et al., Atherosclerosis, 2010) を用いて血管内皮細胞および血管平滑筋細胞へ分化させることが可能であった。動物モデルやADPKD患者由来の嚢胞上皮細胞を用いた研究において、疾患細胞では Ca イオン動態に異常を認め、また細胞外マトリックス代謝に関わる複数の遺伝子の発現に変化が見られることが報告されている。そこで、ADPKD患者および健康人由来の iPS細胞から分化誘導した血管細胞を用いて細胞内 Ca イオン動態解析、マイクロアレイによる遺伝子発現プロファイル解析を行ったところ、Ca イオン動態に一部異常が認められ、さらに複数の細胞外マトリックス代謝に関わる遺伝子群の発現が変化していることを見出した。これらの結果により、ADPKD患者 iPS細胞由来の血管細胞が病態の一部を再現していることが示された。次に、ADPKDにおいて脳動脈瘤の合併に関わる新規の病態関連分子を同定するために、脳動脈瘤合併ADPKD患者由来の iPS細胞から誘導した血管細胞と、非合併ADPKD患者由来の血管細胞の遺伝子発現プロファイルを比較したところ、脳動脈瘤合併 ADPKD患者由来の血管内皮細胞において MMP1 (matrix metalloproteinase 1) の発現が有意に上昇を認めており、蛋白発現および培養上清中への蛋白分泌量も高値を示した。さらに、354人のADPKD患者検体を用いた検討により、脳動脈瘤合併例では非合併例に比較し血清 MMP1 値が有意に高く、家族歴や年齢等の既知のリスク因子を含めた多変量解析によっても血清 MMP1 値は脳動脈瘤合併を予測するリスク因子である可能性が示唆された。</p> <p>【考察】 本研究では、ADPKD患者由来 iPS細胞を血管細胞に分化誘導することで、病態の一部を再現する疾患モデルを作製し、それを用いて脳動脈瘤合併に関わる新規のリスク因子を同定した。今後、本研究結果をもとに脳動脈瘤発生の機序解明が進展することに加え、ADPKD患者由来 iPS細胞から嚢胞が発生する腎臓の尿細管および集合管細胞や胆管細胞を分化誘導し、嚢胞の発生機序のさらなる解明および治療薬探索基盤を開発することが期待される。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本研究では常染色体優性多発性嚢胞腎 (autosomal dominant polycystic kidney disease : ADPKD) 患者における脳動脈瘤合併に関わる新規の病態関連分子の同定を目指し、ADPKD患者由来のiPS (induced pluripotent stem) 細胞を用いて血管分化系疾患モデルの構築を試みた。ADPKD患者7例(脳動脈瘤合併4例と非合併3例)の皮膚線維芽細胞よりiPS細胞を樹立し、既存の分化誘導法を用いて血管内皮細胞および血管平滑筋細胞を誘導可能であることを確認した。ADPKD患者由来iPS細胞から誘導した血管細胞においてCa イオン動態および複数の細胞外マトリックス代謝に関わる遺伝子の発現が変化していることを見出し、病態の一部を再現していることを示した。次に、脳動脈瘤合併4例と非合併3例のADPKD-iPS細胞由来の血管内皮細胞間の遺伝子発現比較解析の結果、合併群においてMMP1 (matrix metalloproteinase 1) 遺伝子の発現が有意に上昇していることを見出した。脳動脈瘤合併の予測因子としての可能性をADPKD患者354人の血清サンプルを用いて検討したところ、脳動脈瘤合併例では非合併例に比較して血清MMP1値は有意に高く、家族歴や年齢等の既知のリスク因子を含めた多変量解析においても血清MMP1値は脳動脈瘤合併を予測するリスク因子である可能性が示唆された。これらの結果より、疾患特異的iPS細胞を用いた疾患モデルが新規の病態関連分子の同定に活用できることが示された。

以上の研究はADPKDの新規疾患モデル構築およびADPKD患者における脳動脈瘤発症機序の解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成28年12月12日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。